



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E CIÊNCIAS AMBIENTAIS

ALTERNATIVAS NO MANEJO DA MANCHA MARROM DE ALTERNARIA E
ANÁLISES PÓS-COLHEITA DE TANGERINA ‘DANCY’

Patrícia Clemente Abraão

Areia – PB
Agosto – 2014

**ALTERNATIVAS NO MANEJO DA MANCHA MARROM DE ALTERNARIA E
ANÁLISES PÓS-COLHEITA DE TANGERINA ‘DANCY’**

PATRÍCIA CLEMENTE ABRAÃO

Monografia apresentada à Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Luciana Cordeiro do Nascimento

Aluna: Patrícia Clemente Abraão

Areia – PB

Agosto – 2014

**ALTERNATIVAS NO MANEJO DA MANCHA MARROM DE ALTERNARIA E
ANÁLISES PÓS-COLHEITA DE TANGERINA ‘DANCY’**

PATRÍCIA CLEMENTE ABRAÃO

Monografia aprovada em: 12/08/2014

Conceito: 9,0

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Luciana Cordeiro do Nascimento
Orientadora
(DFCA/CCA/UFPB)

José George Ferreira Medeiros
Doutorando em Agronomia
(PPGA/CCA/UFPB)

Andréa Celina Ferreira Demartelaere
Doutoranda em Agronomia
(PPGA/CCA/UFPB)

Areia – PB
Agosto – 2014

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.*

A161a *Abraão, Patrícia Clemente.*

3.2.1 Alternativas no manejo da mancha marrom de alternaria e análise pós-colheita de tangerina 'Dancy' / Patrícia Clemente Abraão. - Areia: UFPB/CCA, 2014.

51 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2014.

Bibliografia.

Orientadora: Luciana Cordeiro do Nascimento.

1. Doenças de plantas – Alternaria alternata 2. Mancha marrom – Tangerina Dancy 3. Citrus – Qualidade pós-colheita I. Nascimento, Luciana Cordeiro do (Orientadora) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 634-1/-2

DEDICATÓRIA

*A meu Deus por poder me conceder realizar esse sonho.
Aos meus pais Dorgival Abraão e Santa Clemente Barbosa, pelo carinho,
amor, compreensão, ajuda e por serem exemplo de responsabilidade e
honestidade. Sobre tudo, por acreditarem no meu potencial. Agradeço a
Deus por Vocês existirem, amo Vocês!*

*Aos meus Irmãos Patrício Abraão Clemente, Ricardo Clemente Abraão e
Ramon Clemente Abraão Barbosa por estarem ao meu lado em todos os
momentos me incentivando, dando força e atenção ao longo dessa
trajetória. Pelas palavras amigas nas horas difíceis e por acreditarem
em mim. Amo Vocês!*

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Luciana Cordeiro do Nascimento, pela oportunidade e por ser exemplo de determinação e paciência.

A Andréa Celina Ferreira Demartelaere, pela ajuda, apoio por seus ensinamentos e sobretudo pela amizade e companheirismo fortalecidos ao longo desse trabalho.

A José Rodrigues de Castro Neto, pela ajuda, incentivo e por ser um porto seguro nas horas mais difíceis.

A Amanda T. Batista de Araújo, Bruna Laís do Nascimento Alves, Maria Amália, Camila da Silva Alexandre, Mirely Porcino, Iolanda, Laysa Gabriela Lorentino, Catarina Carvalho, Alex de Deus e Francisca Wilca, pelos bons momentos juntos, ajuda e sobretudo por terem paciências com as minhas peripécias.

A Cristina Marinho por toda ajuda, companhia, compromisso e responsabilidade nas suas atividades e na realização desse trabalho.

A Larissa Almeida, Caroline Vargas, Marciano Nunes, Rommel Siqueira, Hiago Antônio, Wendel, Tomaz e Francisca pela ajuda, amizade, conselhos e a contribuição de cada um na concretização desse trabalho.

Aos meus familiares por sempre me apoiarem e acreditarem em mim.

*Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu.*

Fernando Pessoa.

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Aspectos Gerais da Citricultura	16
3.2 Mancha Marrom de Alternaria (MMA).....	17
3.3 Importância do Manejo Alternativo no Controle de Doenças na Pós-colheita	18
3.3.1 Indução de Resistência.....	19
3.4 Extrato de Pau-ferro.....	20
3.5 Quitosana®	21
3.6 <i>Trichoderma</i> spp.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Preparo dos Tratamentos.....	26
4.1.1 Extrato de Pau-ferro	26
4.1.2 Quitosana®	26
4.1.3 <i>Trichoderma asperellum</i>	26
4.2 Análises Físico-Químicas.....	26
4.2.1 Perda de Massa.....	26
4.2.2 Firmeza.....	26
4.2.3 Sólidos Solúveis Totais (SST)	27
4.2.4 Acidez Titulável	27
4.2.5 Relação SST/AT.....	27
4.2.6 Potencial Hidrogeniônico (pH).....	27
4.2.7 Ácido Ascórbico.....	27
4.3 Análise Estatística	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1-	Escala diagramática descrita por Renaud et al., (2004) e adaptada por Demartelaere; Abraão; Nascimento, (dados ainda não publicados) para avaliação da mancha marrom de alternaria (<i>Alternaria alternata</i> f. sp. <i>citri</i>) em frutos de tangerineira ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex. Tanaka).....	25
Figuras 2A e B.	Incidência e escala diagramática da severidade em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL), em diferentes concentrações do extrato de <i>Caesalpinia ferrea</i> e <i>Trichoderma asperellum</i> . Areia-PB, 2014.....	29
Figuras 3A e B.	Incidência e escala diagramática da severidade em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL), em diferentes concentrações de Quitosana® e <i>Trichoderma asperellum</i> . Areia-PB, 2014.....	31
Figura 4A.	Firmeza dos frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de <i>Caesalpinia ferrea</i> . Areia-PB, 2014.	33
Figuras 5A e B.	Avaliação da acidez em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de <i>Caesalpinia ferrea</i> , Quitosana® e <i>Trichoderma asperellum</i> . Areia-PB, 2014.....	34
Figura 6A.	Relação sólidos solúveis totais/acidez titulável e em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. Ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações de Quitosana® e <i>Trichoderma asperellum</i> . Areia-PB, 2014.....	35
Figuras 7A e B.	Potencial hidrogeniônico em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de <i>Caesalpinia ferrea</i> , Quitosana® e	

<i>Trichoderma</i>	<i>asperellum.</i>	Areia-PB,
2014.....		36
Figuras 8A e B. Ácido ascórbico em frutos de tangerina ‘Dancy’ (<i>Citrus tangerina</i> Hort. ex Tanaka), inoculados com <i>Alternaria alternata</i> (10 ⁵ conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de <i>Caesalpinia ferrea</i> , Quitosana [®] e <i>Trichoderma asperellum.</i>		
	Areia-PB,	2014.
.....		37

ABRAÃO, P. C. **Alternativas no Manejo da Mancha Marrom de Alternaria e Análises Pós-colheita de Tangerina ‘Dancy’**. Universidade Federal da Paraíba. Areia: CCA/UFPB. (Monografia em Agronomia). 51p. 2014.

RESUMO – A tangerineira ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka) é suscetível a diversas doenças, destacando-se a mancha marrom de alternaria (MMA), causada por *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, que vem provocando sérios prejuízos, inviabilizando a comercialização de frutos. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial do extrato vegetal de *Caesalpinia ferrea*, da Quitosana® e de *Trichoderma asperellum* no controle da MMA e na qualidade pós-colheita em frutos de tangerina ‘Dancy’. O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia, no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia-PB. Os frutos foram adquiridos de pomar comercial na cidade de Remígio-PB. Desinfestados e imersos em extrato de *C. ferrea* nas concentrações: 10; 100; 500 e 1000 µg/mL, a Quitosana®: 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L. e *T. asperellum* na suspensão de 10¹⁰ conídios/mL. Após 24 h da aplicação dos tratamentos o patógeno *A. alternata* (10⁵ conídios/mL) foi inoculado em frutos. Em seguida, foram realizadas as avaliações de severidade, incidência, perda de massa, firmeza, SST (°Brix), acidez titulável, relação SST/AT, pH e ácido ascórbico. O delineamento foi o inteiramente casualizado com dez tratamentos e cinco repetições. Quando utilizou o extrato de *C. ferrea* em frutos de tangerina ‘Dancy’, observou diferença estatística, verificando que quando aumentou as concentrações, elevou a incidência e a severidade da MMA, já para a Quitosana®, observou comportamento inverso ao do extrato. Na suspensão do antagonista *T. asperellum*, observou a menores taxas de incidência, redução de *A. alternata* e a menor escala de notas para a severidade da MMA em relação a todas as concentrações de *C. ferrea*, Quitosana® e a testemunha (ADE). Para a avaliação pós-colheita, as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L de Quitosana®, *T. asperellum* e a testemunha (ADE), não houve diferença estatística para os tratamentos, para a perda de massa, firmeza dos frutos, sólidos solúveis totais e a relação SST/AT em todas as concentrações de *C. ferrea*. Avaliando as concentrações de *C. ferrea*, Quitosana® e *T. asperellum*, verificou que, à medida que aumentou as concentrações, elevou a média da acidez, pH e a taxa de ácido ascórbico em frutos. Já nas concentrações de Quitosana®, verificou que à medida que aumentou as concentrações, reduziu a média para a relação de SST/AT e o *T. asperellum* apresentou média baixa para esta avaliação. E quando comparou o *T. asperellum* com as concentrações 100 µg/mL de *C. ferrea* e 1,5 g/L Quitosana®, observou as menores médias para a taxa de ácido ascórbico. Portanto, as concentrações 100 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, 2,0 g/L de Quitosana® e o *T. asperellum* foram responsáveis por reduzir a incidência de *A. alternata*, a severidade da MMA e conservar a qualidade pós-colheita em frutos de tangerina ‘Dancy’. E as concentrações 10; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0 e 1,5 g/L de Quitosana®, não foram eficientes no controle da MMA em frutos de tangerina ‘Dancy’, porém, em algumas concentrações, conservou as qualidades pós-colheita em frutos de tangerina ‘Dancy’.

Palavras-chave: *Alternaria alternata*, Citrus, *Trichoderma asperellum*

ABRAÃO, P. C. **Alternatives in the Management of Alternaria Brown Spot and Analyzes Postharvest Tangerine 'Dancy'**. Universidade Federal da Paraíba. Areia: CCA/UFPB. (Monografia em Agronomia). 51p. 2014.

ABSTRACT-The 'Dancy' tangerine (*Citrus tangerine* Hort. ex Tanaka) is susceptible to various diseases, especially of Alternaria brown spot, caused by *Alternaria alternata* f. sp. *citri*, which has caused serious damage, preventing the marketing of fruit. Therefore, the aim of this study was to evaluate the potential of the plant extract of *Caesalpinia ferrea*, Chitosan[®] and *Trichoderma asperellum* in control of Alternaria brown spot and postharvest quality 'Dancy' tangerine fruit. The experiment was conducted at the Laboratory of Pathology, Centro de Ciências Agrárias-UFPB, Campus II, Areia-PB. The fruits were purchased from a commercial orchard in the town of Remigio-PB City, then desinfested and immersed in the extract of *C. ferrea* concentrations: 10; 100; 500 and 1000 µg/mL, Chitosan[®]: 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0g/L. And *T. asperellum* suspension (10¹⁰ conidia/mL). After 24h of application of these products, they were inoculated with *A. alternata* pathogen (10⁵ conidia/mL) in the 'Dancy' tangerine fruits. After the following evaluations were performed rating: incidence, severity of Alternaria brown spot, weight loss (kg⁻¹), firmness, total soluble solids, titratable acidity, soluble solids/acid ratio, pH and ascorbic acid. The design was completely randomized design with ten treatments and five replications. When used the extract of *C. ferrea* 'Dancy' tangerine fruit, observed statistical difference, noting that when increased concentrations, increased the incidence and severity of MMA since Chitosan[®] for the observed inverse to extract behavior. The suspension of the antagonist *T. asperellum* noted the lowest incidence rates, reduction of *A. alternata* and the smaller scale of notes to the severity of MMA in relation to all concentrations of *C. ferrea*, Chitosan[®] and the witness (ADE). For postharvest assessment, concentrations 10; 100; 500 and 1000 µg/mL of the extract of *C. ferrea* and 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 g/L of Chitosan[®], *T. asperellum* and the witness (ADE), there was no statistical difference among the treatments for weight loss, fruit firmness, total soluble solids and SST/AT at all concentrations of *C. ferrea*. Assessed the levels of *C. ferrea*, Chitosan[®] and *T. asperellum*, found that as the concentration increased, increased the titratable acidity, pH, and the rate of ascorbic acid in fruit. Already at concentrations of Chitosan[®], found that as the concentration increased, reduced the average ratio for the SST/AT and *T. asperellum* presented average low for this assessment. And when compared with *T. asperellum* concentrations 100 g/mL of *C. ferrea* and 1.5 g/L Chitosan[®] observed the lowest averages for the rate of ascorbic acid. Therefore, the concentration 100 µg/mL of extract of *C. ferrea*, 2.0 g/L and *T. asperellum*, Chitosan[®] were responsible for reducing the incidence of *A. alternata*, the severity of MMA and maintain the quality postharvest tangerine fruit 'Dancy'. And the concentrations 10; 500 and 1000 µg/mL of the extract of *C. ferrea* and 0.5; 1.0 and 1.5 g/L of Chitosan[®], were not effective in controlling MMA tangerina fruit 'Dancy', but in some concentrations, retained postharvest qualities 'Dancy' tangerine fruit.

Keywords: *Alternaria alternata*, Citrus, *Trichoderma asperellum*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de frutas cítricas, apresentando uma produção nacional de laranjas e tangerinas com aproximadamente 19.811.064 toneladas e 1.004.727 toneladas, respectivamente na safra de 2013 (IBGE, 2014). Essa produção resulta principalmente pela aceitação e demanda do consumidor, devido ao sabor, valor nutritivo, várias formas de consumo (*in natura*, sucos, licores, doces etc.), facilidade de industrialização e relativa resistência a danos resultantes da manipulação pós-colheita (CITRICULTURA, 2013).

Na última década, o cultivo de citros expandiu do sudoeste de São Paulo, para as regiões Sul e Nordeste, ampliando cada vez mais a produção brasileira (CITRUS BR, 2013). No Nordeste, o estado da Bahia se destacou com uma crescente produção em torno de 500 mil toneladas (AGRONEGÓCIOS, 2013). No estado da Paraíba, localiza-se o principal Polo Citrícola que está concentrado em sete municípios: Lagoa Seca (latitude 7° 10' 15" S, longitude 35° 51' 14" W), Remígio (latitude 6° 54' 10" S, longitude 35° 50' 2" W), Esperança (latitude 7° 1' 22" S, longitude 35° 51' 36" W), São Sebastião de Lagoa de Roça (latitude 7° 4' 58" S, longitude 35° 50' 6" W), Alagoa Nova (latitude 7° 4' 15" S, longitude 35° 45' 28" W), Massaranduba (latitude 7° 12' 0" S, longitude 35° 47' 20" W) e Matinhas (latitude 7° 7' 30" S, longitude 35° 46' 1" W), apresentando uma produção em torno de 20 mil toneladas na safra de 2013 (FREITAS, 2013).

A tangerineira tipo 'Dancy' (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka) é uma variedade bastante produzida região do Brejo Paraibano, porém suscetível a diversas doenças, destacando-se a mancha marrom de alternaria (MMA), causada pelo fungo *A. alternata* Fr. (Keissler) f. sp. *citri* que tem proporcionado sérios prejuízos, inviabilizando principalmente a comercialização de frutos para consumo *in natura* (COTTAS, 2008).

A mancha marrom de alternaria foi descrita pela primeira vez em tangerinas Emperor em 1903, na Austrália. Em seguida, a doença apareceu na Flórida no ano de 1974 e foi subsequente identificada na África do Sul, Israel, Turquia, Colômbia (TIMMER et al., 2000) e recentemente na Argentina (PERES et al., 2003). No Brasil, foram constatados os primeiros sintomas da doença em tangerineiras 'Dancy' em 2001, no Estado do Rio de Janeiro (GOES et al., 2001). Em 2003, foi detectado nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul, causando danos em pomares de tangerina Ponkan (*Citrus reticulata*) e, principalmente em Tangor Murcott (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) (PRATES, 2004). E só no ano de 2009 a MMA foi constatada em frutos de tangerina 'Dancy' na Paraíba (LOPES et al., 2009).

O controle da MMA requer uma ou mais táticas empregadas no manejo integrado de doenças. Dentre estas, a utilização de fungicidas sintéticos que são eficientes, porém, podem causar impactos ambientais, ser nocivos ao homem, aos animais e onerar os custos da produção (COTTAS, 2008, LOPES et al., 2009). Por isso, vários estudos têm demonstrado que alguns fungos antagonistas, polissacarídeos extraído de exoesqueleto de crustáceos e extratos de folhas de algumas espécies vegetais são eficientes no controle de doenças (RABELLO et al., 2009).

O potencial biológico do extrato de *Caesalpinia ferrea* (Benth.) Ducke pode ser mensurado através de compostos associados a importantes propriedades biológicas, seja na defesa contra insetos e doenças ou ainda associado à biossíntese de outras substâncias consideradas fundamentais aos processos fisiológicos dos vegetais. Que são responsáveis pela construção de componentes das paredes celulares e estão também associados à síntese das vitaminas, enzimas, hormônios e polifenóis (PINTO, 2013).

Outro método alternativo é o uso da Quitosana[®] que tem demonstrado resultados promissores no controle de doenças. Pois, esse polímero é responsável pelo engrossamento da parede celular dos tecidos dos hospedeiros, formando papilas que ocupam espaço intracelular com substâncias amórficas, que são compostos antifúngicos semelhantes aos fenóis e que induzem respostas de defesa (EL GHAOUTH, 1994).

O fungo do gênero *Trichoderma* spp. é bastante eficiente no controle biológico de doenças, devido alguns mecanismos de defesas utilizados na ação deste antagonista, como a produção de antibióticos e metabólitos tóxicos (HOWELL, 1998), a competição, que impede a colonização dos tecidos do hospedeiro e o micoparasitismo onde o antagonista degrada a parede celular, utilizando o fitopatógeno como alimento (FELIX, 2006, MARTIN et al., 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Utilizar o manejo alternativo no controle da mancha marrom de alternaria em frutos de tangerina ‘Dancy’.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar a incidência e severidade da mancha marrom de alternaria em frutos de tangerina ‘Dancy’;
- Avaliar o potencial do extrato de Pau-ferro, Quitosana[®] e *Trichoderma* spp. como elicitores em resposta de defesa em frutos de tangerina ‘Dancy’ no controle da mancha marrom de alternaria;
- Avaliar a qualidade pós-colheita em frutos de Tangerina ‘Dancy’.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Aspectos Gerais da Citricultura

De origem asiática, pertencente à família Rutaceae, as espécies de plantas cítricas foram introduzidas no Brasil pelas primeiras expedições colonizadoras e devido às condições climáticas favoráveis, a citricultura tem expandido para diversas regiões do país até os tempos atuais, destacando-se na fruticultura mundial, devido à alta produção que chega em torno de 16.252.815 toneladas na safra de 2013 (LARANJA CAFÉ, 2013). Desta forma, percebe-se uma expansão no mercado citrícola nos últimos anos, que tem contribuído para o crescimento socioeconômico, elevando a balança comercial nacional e gerando empregos (ALVES; MELO, 2014).

Entretanto, além das laranjas que são um das frutas mais produzidas e com maior aceitação do mercado consumidor, pode-se destacar também as tangerinas (OLIVEIRA et al., 2008) que por sua vez representa o segundo grupo de frutas cítricas de maior importância econômica para o país, podendo ser classificadas: Tangerinas Comuns (*Citrus reticulata* Blanco) que é composta por: Pokan, Pokan IAC-224, Pokan Precoce IAC-595, Clementina e Fortune. As Tangerinas Satsumas: (*Citrus unchiu*, Marchovitch): Satsuma, S. Owari, S. Miyagawa IAC-537. As Mexericas (*Citrus deliciosa*, Tenore): Mexerica Mogi das Cruzes IAC-606 e Mexerica Tardia IAC-589. E a Tangerina (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka): ‘Dancy’ (SILVA, 2011), apresentando altos teores de vitaminas B1 e B2, compostos antioxidantes, que são indispensáveis na inativação dos radicais livres (PELISSARI, 2013). Além de conter grande quantidade de fibras, de sais minerais como magnésio, potássio, cálcio, fósforo e da substância betacaroteno (precursor da vitamina A) (ALVES; MELO, 2014).

A citricultura representa um papel fundamental na produção e no comércio internacional, porém, ao longo dos anos, vem surgindo diversos problemas fitossanitários, dentre eles, destacam-se as principais doenças causadas por vírus: leprose (*Citrus leprosis virus* (CiLV), tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*), fungos: gomose (*Phytophthora citrophthora*), pinta-preta (*Guignardia citricarpa* Kiely), verrugose (*Elsinoe fawcetti*), mancha-preta dos citros (MPC) (*Guignardia citricarpa Phyllosticta citri-carpa* McAlp. Van der Aa), mancha marrom de alternaria (*A. alternata* Fr. (Keissler) f. sp. *citri*), nematóides parasitas: (*Tylenchulus semipenetrans*) e (*Pratylenchus jaehni*) e bactérias: cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*), CVC (amarelinho) (*Xylella fastidiosa* Wells) e greening

(etiologia desconhecida) as quais se revelam como principal entrave à continuidade da atividade citrícola para algumas espécies (MORAIS, 2014).

3.2 Mancha Marrom de *Alternaria* (MMA)

O gênero *Alternaria* spp. inclui espécies patogênicas saprofíticas e endofíticas (WALTON, 1996, PEEVER et al., 2004) apresentando forma imperfeita, pois a fase sexual é ausente na maioria de suas espécies, sendo a morfologia e a genética similares para as duas formas, entretanto, apresentam diferenças patológicas (KUSABA; TSUGE, 1994). Dentre estas, três são descritas como causadoras de doenças, afetando frutos, folhas e ramos de tangerinas, causada por *A. alternata*, patótipo tangerina que produz a toxina ACT que é uma micotoxina formada pelo ácido tenuazônico que, em contato com a planta, atua na membrana plasmática, provocando a sua permeabilização e a morte celular. A mancha foliar causada por *Alternaria*, também afeta as folhas e frutos de limões, causada por *A. alternata* patótipo limão, que produz a toxina ACR ou ACRL e a podridão negra que afeta os frutos, podendo muitas vezes ocorrer à queda, sendo causada por *A. alternata* que não produz toxina (LARANJEIRA et al., 2009).

Dentre os principais problemas fitossanitários que afetam a cultura da tangerina ‘Dancy’ na Paraíba, pode citar a mancha marrom de alternaria (MMA) causada pelo fungo *A. alternata* tangerina (WHITESIDE et al., 1993, LOPES et al., 2009), que se reproduz sobre o material vegetal infectado, presente na árvore ou caído no solo, por meio da formação de esporos assexuais (TIMMER et al., 2000). Estes conídios possuem parede celular espessa, caracterizada pela coloração escura, com a presença de septos longitudinais e transversais, que são resistentes ao ressecamento e outras condições adversas, sendo liberados pela ação da chuva ou do molhamento dos tecidos por orvalho e disseminados a longas distâncias pelo vento (BARNETT; HUNTER, 1998, SPÓSITO et al., 2003b).

O processo de infecção e colonização de *A. alternata* se dá geralmente pela penetração do fungo através dos estômatos, onde verifica-se hifas espessas dentro do tecido, com diâmetro maior que o tubo germinativo do conídio, apresentando micélio interno ramificado colonizando e liberando as toxinas nos tecidos que pode ser a ACT ou ACR, causando ação rápida e extravasamento celular, destruindo as células ao redor do ponto de penetração e assim garantir os nutrientes para sua sobrevivência, papel fundamental na expressão dos sintomas (STIMMER et al., 2000, STUART et al., 2009).

Nas folhas jovens, as lesões são necróticas com tamanhos variando de 3-6 mm de diâmetro e de 1-3 mm de profundidade. Em folhas maduras a MMA aparece como distintas

manchas amarronzadas, circundadas por um halo amarelo, de coloração marrom ou preta. Com o tempo, essas lesões aumentam de tamanho e tomam grandes áreas da superfície da folha, dependendo da quantidade de inóculo, grau de suscetibilidade e idade dos órgãos vegetais (GARDNER et al., 1986, REIS et al., 2006a). Em ramos novos, as lesões são necróticas com uma forma arredondada ou alongada, medindo de 3-8 mm e coloração marrom-escuro. Podendo ocorrer à queda prematura (SOLEL, 1991, FEICHTENBERGER et al., 2005).

Em frutos jovens, quando infectados, as lesões podem induzir sua abscisão, podendo também ocorrer à queda das pétalas. Em frutos completamente formados, inicialmente a mancha é corticosa, saliente e deprimida no centro, circundadas por um halo amarelado, formando pústulas. Onde as lesões mais desenvolvidas, o tamanho é bastante variável, atingindo grandes áreas da casca, provocando cicatrizes que depreciam o fruto, podendo ser destacados facilmente da planta, comprometendo a produtividade e inviabilizando a comercialização para consumo de frutos frescos (FEICHTENBERGER et al., 2005, COTTAS, 2006).

3.3 Importância do Manejo Alternativo no Controle de Doenças na Pós-colheita

Diversas doenças podem comprometer a produtividade em várias fases da cultura. Dentre estas, as podridões constituem-se a principal causa de danos pós-colheita em citros, como o bolor verde (*Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.), que é considerada a principal doença em citros e está disseminado nos países produtores, afetando todas as espécies e variedades cítricas (ECKER; EAKS, 1989). Outras doenças como as podridões pedunculares (*Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon, Maubl.) e (*Phomopsis citri* Fawcett), a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc.), o bolor azul (*P. italicum* Wehmer), também são importantes, principalmente sob determinadas condições (LADANIYA, 2008).

Com a crescente exigência do mercado consumidor por frutas de alta qualidade e produzidas com a substituição de insumos poluentes e não renováveis. A necessidade desse desenvolvimento na busca de tecnologias alternativas para o controle de doenças em pós-colheita, em substituição aos fungicidas tradicionais, deve-se à demanda da sociedade para a redução do uso de agrotóxicos e à seleção de fitopatógenos resistentes aos compostos químicos sintéticos (NEGREIROS et al., 2013).

Os agentes de biocontrole podem ser eficientes no controle de doenças em pós-colheita, porque podem ser inseridos em condições que favorecem seu desenvolvimento e ocupação dos sítios de infecção (FORNER, 2012). Onde a população do antagonista no fruto

é relevante no controle biológico e para que esse controle seja mais eficiente, é importante que o antagonista colonize a superfície do fruto e persista nele (LUCON et al., 2010, FORNER, 2012).

Os métodos físicos podem atuar diretamente sobre os patógenos, bem como, de modo indireto, atuando sobre a fisiologia da fruta, retardando o amadurecimento e, conseqüentemente, mantendo a resistência da fruta (SENHOR, 2009). Nesta modalidade de controle são utilizados vários agentes físicos para reduzir o inóculo ou o desenvolvimento das doenças, como a temperatura, a radiação, a ventilação e a luz (GHINI; BETTIOL, 1995). No entanto, nem sempre estes tratamentos são efetivos na descontaminação superficial, sendo necessário o uso de tratamentos combinados.

Portanto, a busca de alternativas para o controle de doenças, visa à redução do uso de agroquímicos contribuindo para a sustentabilidade e a competitividade do agronegócio citrícola. Além disso, favorece a abertura de novos nichos de mercado pela oferta de um produto diferenciado, de alto valor agregado e de melhor qualidade. Também possibilita a exportação desse produto, uma vez que os mercados consumidores internacionais de frutas *in natura* vêm determinando procedimentos fitossanitários rigorosos para proteção de seus campos de produção (MARO, 2010).

3.3.1 Indução de Resistência

Consiste no aumento do nível de resistência por meio da ativação de genes que codificam diversas respostas da defesa vegetal sem alterar o genoma, através da utilização de agentes externos (indutores) bióticos ou abióticos (BONALDO et al., 2005). Seu efeito deve estar unicamente relacionado com a sua capacidade de sensibilizar a planta, e ativar seus mecanismos de defesa que pode ser estruturais e bioquímicos. A resistência usualmente é complexa e tem como base a ação combinada de diversos fatores e não apenas um componente (SOARES; MACHADO, 2007). Esse fenômeno se inicia com o reconhecimento do agente agressor e desencadeia uma cascata de eventos e sinais que culmina com a ativação dos mecanismos de defesa.

Os mecanismos estruturais funcionam como barreiras físicas (cutícula, tricomas e estômatos) impedindo a penetração dos órgãos ou a colonização de tecidos pelo patógeno. E os bioquímicos consistem na produção de substâncias pela planta capazes de inibir o crescimento do patógeno, ou de criar condições para impedir a sobrevivência em células ou em tecidos vegetais, quando ocorrer à penetração. Estes mecanismos bioquímicos também incluem a alteração do polímero da parede celular, síntese de fitoalexinas, produção de

proteínas relacionadas à patogênese e uma rápida resposta de hipersensibilidade seguida por morte programada da célula (KUC, 1996, KEEN, 2000).

Como se aplica o agente de indução em um local da planta e os mecanismos de defesa são ativados em outras partes distantes. Pressupõe-se que deva existir algum tipo de sinal químico, bioquímico, energético ou de natureza ainda desconhecida que deve ter sua origem no sítio de indução enviando para locais mais distantes numa espécie de reação em cadeia. Ou seja, quando um microrganismo patogênico invade o tecido de uma planta, pode induzir mudanças drásticas na atividade metabólica das células vegetais ao redor do sítio de infecção e levar à indução de resistência, o que muitos autores denominam de resistência local (KUC, 1995, ROMEIRO, 2008).

Com a crescente pesquisa dentro da fitopatologia e desenvolvimento de novas tecnologias voltadas para a agricultura, se concentra o fenômeno da especificidade entre o patógeno e o hospedeiro, que são evidentes nos incrementos com a utilização de métodos agroecológicos, apresentando novas medidas de proteção de plantas que vem apresentando destaque, como a indução de resistência, pois, ativa os mecanismos de defesa vegetal para o controle de pragas e doenças (MAZARO et al., 2012).

3.4 Extrato de Pau-ferro

A *Caesalpinia ferrea* (Benth). Ducke é uma espécie da família Fabaceae, popularmente conhecida como jucá ou pau-ferro. Planta perenifólia a semi-decídua, nativa da mata atlântica, que expandiu do sudeste ao nordeste do Brasil, nas florestas pluviais de encosta atlântica (floresta ombrófila densa) (PATRO, 2013).

Esta espécie tem sido bastante estudada devido os compostos microbianos contidos no extrato e que tem mostrado uma alta eficiência no controle de doenças, pois, caracterizam-se como importantes fontes de compostos bioativos (fenólicos totais e ácido gálico) presentes na estrutura química dos mesmos, com propriedades biológicas, apresentando efeito inibitório sobre a ação de diversos fungos, tornando um método eficiente, devido ao aumento da atividade antioxidante e ativação dos mecanismos de defesa (SOUSA et al., 2009).

Sendo fundamentais na construção de componentes das paredes celulares e estão também associados à síntese das vitaminas, enzimas, hormônios e polifenóis (PINTO, 2013). Capturando radicais livres, fontes de compostos bioativos, enquadrando-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e

cinâmico), cumarinas, flavonóides, taninos condensados e hidrolisáveis e as ligninas (SHAHIDI; NACZK, 2004).

3.5 Quitosana[®]

É um polímero natural de cadeia similar à da celulose, (1-4) 2-amino- 2-deoxi-D-glucose (ou D-glucosamina) atóxico e biodegradável, obtido por meio da desacetilação alcalina da quitina (HAN et al., 2005, MAZARO et al., 2008) que é um polissacarídeo encontrado naturalmente no exoesqueleto de insetos e crustáceos (DASH et al., 2011), solúvel em soluções aquosas, diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos. Apresenta uma alta bioatividade, reatividade do grupo amino desacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, atividade antimicrobiana e habilidade em formar gel (SINGH et al., 2008, THARANATHAN; KITTUR, 2008).

Por ser um produto natural, renovável e não apresentar nenhuma toxicidade ao homem (RAMOS BERGER et al., 2011) este polímero tem sido proposto como um produto potencialmente atraente para usos diversos, como na área alimentícia, biotecnologia, produtos farmacêuticos, proteção ambiental e, na agricultura (AZEVEDO et al., 2007), tem sido muito difundido com a utilização do biofilme incolor, comestível e de consistência gelatinosa, que protege a superfície externa dos frutos, legumes e sementes, reduzindo a incidência de patógenos e garantindo a integridade dos vegetais (BADAWY, 2008; HERNANDÉZ-LAUZARDO et al., 2008).

Segundo Devlieghere et al. (2004) a Quitosana[®] pode atuar de três formas distintas na defesa vegetal, inibindo o crescimento de fungos devido o acúmulo de proteínas relacionadas à patogenicidade, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio, induzindo a produção da quitinase, β -1,3-glucanases, fenilalanina amônia-liase e peroxidase, promovendo a lignificação, atrasando o aumento da atividade polifenol-oxidase durante o armazenamento (APAIL et al., 2009), induzindo a formação de fitoalexinas e aumentando a produção de compostos fenólicos (STAMFORD et al., 2008, MAZARO, 2007).

Por isso, esse método tem sido bastante difundido no manejo de doenças pós-colheita de frutos, reduzindo a incidência de patógenos, conservando as características físico-químicas, prolongando o período de conservação dos frutos e minimizando ou substituindo o uso de fungicidas (CAMILI et al., 2007).

3.6 *Trichoderma* spp.

Conhecido há mais de 200 anos é um gênero de fungos filamentosos, não patogênicos, pertencente à ordem Hypocreales, sendo responsáveis por promover o crescimento de plantas (HARMAN, 2000, HARMAN et al., 2004) e auxiliar na germinação de sementes (KUBICEK et al., 2001, WITKOWSKA; MAJ, 2002, MONTEIRO; UELHOA, 2006).

E também, por ser importante no biocontrole de fitopatógenos, devido a produção de substâncias tóxicas (WOO et al., 2006) podendo degradar celulose, hemicelulose (RCHUSTER; SCHMOLE, 2010) exercendo o antagonismo contra vários fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* entre outros, que causam prejuízos a diversas culturas tais como maçã (*Malus domestica* Borkh), morango (*Fragaria vesca* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L.) (MORAIS, 2014).

A indução de resistência de algumas linhagens de *Trichoderma* spp. se dá através da capacidade de desencadear uma série de alterações morfológicas e bioquímicas que pode ocorrer no vegetal, levando à ativação dos mecanismos de defesa contra diversos fitopatógenos (LUCON, 2009) através da ação direta ou indireta como a antibiose que inibe ou suprime a incidência do patógeno, devido à produção de diversas substâncias tóxicas, voláteis e não voláteis, com amplo espectro de atividade antimicrobiana.

Já a competição, pode ser explicada através da interação do antagonista com o hospedeiro (patógeno). Onde as duas populações têm crescimento e a sobrevivência prejudicados, existindo uma disputa por nutrientes ou espaço com o patógeno, levando o seu deslocamento do sítio de infecção, impedindo a germinação de seus propágulos e retardando o processo de infecção na planta (SHORESH et al., 2006).

O micoparasitismo ocorre quando o antagonista utiliza o fitopatógeno como alimento, pois suas hifas se enrolam através de estruturas denominadas apressórios, degradam a parede celular pela secreção de enzimas líticas (quitinases, celulasas, glucanases e proteases), que agem de forma sinérgica na degradação da parede celular do hospedeiro (FELIX, 2006), apresentando um importante papel no mecanismo de biocontrole (VITERBO et al., 2002, MARTIN et al., 2007).

Estudos realizados por Luconet et al. (2009) demonstraram que a espécie *T. asperellum* controla o tombamento de plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) causado por *Rhizoctonia solani*, tendo como resultado um total de 100% de plantas sobreviventes. Quando

se utilizou *T. Asperellum* em plantas de tomate (*L. esculentum* L.) verificou-se que o mesmo agiu como biocontrolador, promovendo o controle da murcha de fusarium em tomateiro causada por *F. Oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W. C. Snyder and H. N. Hans (SEGARRA et al., 2009).

O *T. asperellum* (Samuels, Lieckf. e Nirenberg, Sydowia) é uma espécie ainda pouca estudada, mas, tem se mostrado efetiva como agente de controle biológico através da produção de antibióticos peptídicos da superfamília das trichotoxinas (CHUTRAKUL; PEBERDY, 2005) e também do micoparasitismo contra fungos fitopatogênicos que são responsáveis por induzir resistência (TRILLAS et al., 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O preparo do inóculo e inoculação de *A. alternata*, as diluições do extrato de *C. ferrea*, da Quitosana[®], do antagonista *T. asperellum* e as análises pós-colheita foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais, do Centro de Ciências Agrárias-UFPB, Campus II, Areia-PB. E a preparação do extrato de *C. ferrea* foi feito no Laboratório de Química de Produtos Naturais na Universidade Federal da Paraíba (UFPB) Campus- I, João Pessoa-PB.

4.1 Preparo do Inóculo e Inoculação de *Alternaria alternata* em Frutos de Tangerina ‘Dancy’

O isolado de *A. alternata* foi obtido de folhas de citros com sintomas típicos da MMA coletadas de laranja ‘Setubalense’ (*C. cinensis*) na cidade da Tondela (40° 31” N e 08° 04” W), Portugal-PT. O material coletado foi desinfestado por meio de sucessivas lavagens com etanol a 70% por trinta segundos, hipoclorito a 1% durante três minutos e duas imersões com água destilada esterilizada (ADE), em seguida três fragmentos com 0,5 mm de diâmetro foram postos em meio de cultura BDA (200 g batata, 20 g dextrose, 20 g ágar L⁻¹) e acrescido do fungicida Carbendazin na dosagem recomendada pelo fabricante (500 g/L), para inibir a proliferação de fungos contaminantes.

As placas contendo o fungo foram incubadas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (COLTURATO, 2006). Para confirmar a identidade dos isolados, três discos com 0,5 mm de diâmetro com colônias do fungo foram transferidos para o meio carbonato de cálcio, CaCO₃ (30 g de CaCO₃, 20 g de sacarose e 20 g de ágar L⁻¹), para indução de esporulação de *A. alternata*. Os isolados foram mantidos em temperatura ambiente (25 ± 2 °C), durante sete dias. Após esse período, feita a identificação em microscopia óptica (CANIHOS; PEEVER; TIMMER, 1999).

Os frutos de tangerina ‘Dancy’ foram adquiridos de pomar comercial na cidade de Remígio-PB (latitude 6° 54’ 10” S, longitude 35° 50’ 2” W), sendo colhidos manualmente e com padrão aceitável para comercialização. Em seguida, foram levados ao Laboratório de Fitopatologia, onde foi a desinfestação em três etapas: os frutos foram imersos em baldes plásticos com capacidade para 10 L contendo 1 L de água destilada, em seguida imersos em detergente líquido a 2% e por último, hipoclorito de sódio a 5% por cinco minutos respectivamente, sendo postos para secar em papel toalha à temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

Foram feitas duas lesões, onde cada lesão foi feita em lados opostos dos frutos, sendo realizadas com o auxílio de um perfurador flambado, com dois pontos equidistantes na

região equatorial, com quatro ferimentos de aproximadamente 0,3 mm de profundidade (DENARDI; BERTON; SPENGLER, 2003).

Após sete dias de cultivo em placa de Petri, foi adicionado na superfície da placa 10 mL de ADE e com auxílio de uma espátula estéril, onde os conídios de *A. alternata* foram raspados, filtrados em dupla camada de gaze esterilizada, quantificados em hemocítômetro (1000 mL de uma suspensão de 10^5 conídios/mL de *A. alternata*). Em seguida, foi feita a inoculação com 0,125 µL da suspensão do patógeno em frutos de tangerina ‘Dancy’ com ajuda de um pipetador de 10µL, nas duas regiões onde foram provocadas as lesões.

No segundo dia da aplicação do inóculo, foram feitas diariamente as avaliações da severidade, mediante emprego de escala diagramática descrita por Renaud et al. (2004) e adaptada por Demartelaere; Abraão; Nascimento, (dados ainda não publicados) (Figura 1). E no décimo segundo dia, foi calculada a redução da incidência e severidade, por regra de três, tirando como base a testemunha, em seguida foi determinada a percentagem de incidência (%) do número de frutos com sinais da mancha marrom de alternaria (MMA), de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Incidência(\%)} = \frac{(\text{Frutos infectados} * 100)}{\text{Total de frutos}}$$

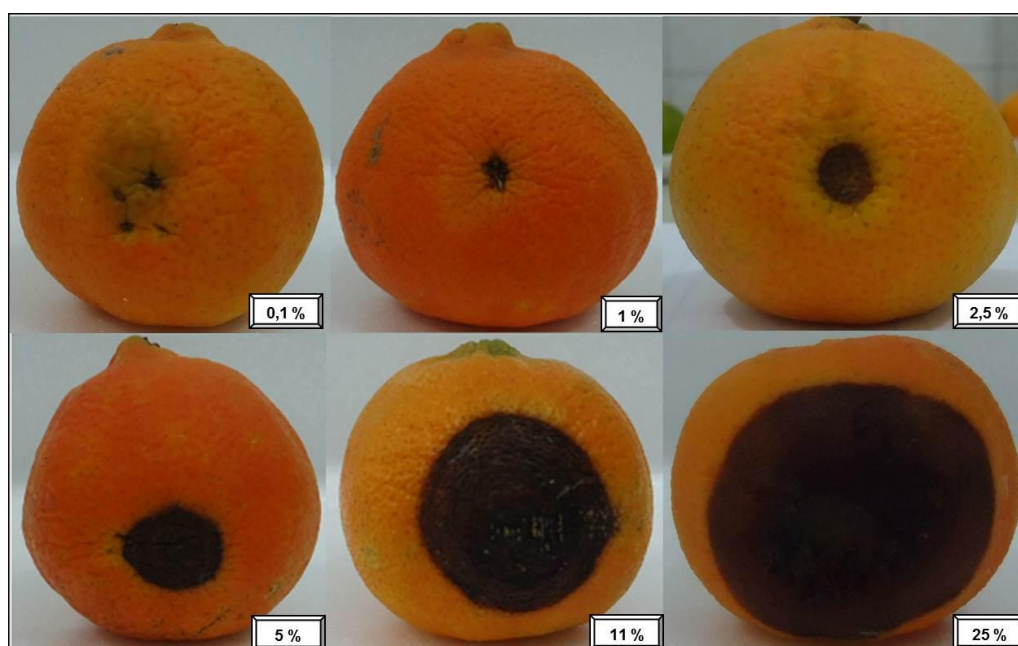


Figura 1- Escala diagramática descrita por Renaud et al., (2004) e adaptada por Demartelaere; Abraão; Nascimento, (dados ainda não publicados) para avaliação da mancha marrom de alternaria (*Alternaria alternata* f. sp. citri) em frutos de tangerineira ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex. Tanaka).

4.1 Preparo dos Tratamentos

4.1.1 Extrato de Pau-ferro

As folhas de pau-ferro foram coletadas na Área Experimental da Chã de Jardim, do CCA, Campus II, Areia-PB (Latitude: 6° 57' 42" Sul Longitude: 35° 41' 43" Oeste) e dispostas em sacos de papel, sendo levadas à estufa com temperatura constante de 60 °C por um período de 72 h, até a obtenção de peso seco. Posteriormente, as folhas foram trituradas (pó), em seguida pesadas 100 g e colocadas em recipientes de vidro fechado com adição de 200 mL de etanol (96%), agitadas duas vezes ao dia, por um período de 72 horas em infusão (LIMA et al., 2010).

Em seguida, por meio de evaporador rotativo, foi extraído o concentrado e levados à estufa de circulação forçada por um período de uma hora, até atingir uma consistência pastosa do extrato bruto. Posteriormente foi feita a diluição do extrato em ADE com ajuda de um agitador magnético por um período de duas horas para obtenção das seguintes concentrações: 10, 100, 500 e 1000 µg/mL.

4.1.2 Quitosana®

A solução de Quitosana® foi preparada de acordo com a metodologia de Cia et al, (2010), solubilizando-se o polissacarídeo em ácido acético a 1% em temperatura ambiente (25 ± 2 °C), seguido de agitação constante por um período de duas horas, para permitir a completa dissolução do produto. Em seguida, os frutos de tangerina ‘Dancy’ foram imersos durante cinco minutos nas seguintes concentrações: 5; 10; 15 e 20 g/L com 75-85% de desacetilação, de médio peso molecular (Qmpm; 190-310 KDa), adquirida junto à empresa Sigma- Aldrich Chemicals, SP, Brasil.

4.1.3 Trichoderma asperellum

Os frutos foram submersos em baldes plásticos com capacidade para 10 L, contendo 1000 mL/L da suspensão de 10^{10} conídios/mL de *T. asperellum* (dosagem recomendada pelo fabricante), por um período de cinco minutos, onde o produto foi adquirido pela empresa Quality - Laboratório Farroupilha de Produtos Biológicos, Patos de Minas-MG.

4.2 Análises Físico-Químicas

4.2.1 Perda de Massa

Foi realizada a cada dois dias, durante 12 dias, pesando-se os frutos em balança semi- analítica, com capacidade para 15 kg e sensibilidade para 5 g, tomando-se como base o peso inicial.

4.2.2 Firmeza

Determinada por um penetrômetro manual, (ponteira de 8 mm de diâmetro), com uma leitura na parte mediana de cada fruto.

4.2.3 Sólidos Solúveis Totais (SST)

Foi realizada através do suco extraído de fatias de frutos cortadas longitudinalmente e determinado em refratômetro digital, com correção automática de temperatura, sendo os resultados expressos (°Brix) (AOAC, 2005).

4.2.4 Acidez Titulável

Foi determinada por titulação de 25 mL de suco, com uma solução de hidróxido de sódio a 0,3125 N e usando-se a fenoftaleína como indicadora e expresso em porcentagem de ácido cítrico.100 g⁻¹ de suco (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008).

4.2.5 Relação SST/AT

Obtida através da divisão os valores médios do teor de sólidos solúveis pelas médias da acidez titulável.

4.2.6 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Foi extraído uma amostra de 5mL de suco, homogeneizada em 50 mL de ADE. Onde foi feito a leitura em um peagâmetro de bancada que possui correção automática dos valores em função da temperatura (AOAC, 2005).

4.2.7 Ácido Ascórbico

Foi determinada através da redução do 2,6-diclorofenolindofenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Para a análise foram adicionados 5 mL do suco e 50 mL de ácido oxálico 1%. Posteriormente, foi titulada esta solução com o DCFI até coloração rosa persistente por 15 segundos. Os teores de ácido ascórbico das amostras foram calculados usando-se uma solução padrão e os resultados expressos em mg de ácido ascórbico 100 mL⁻¹ da amostra, segundo o método do (ITA, 1990).

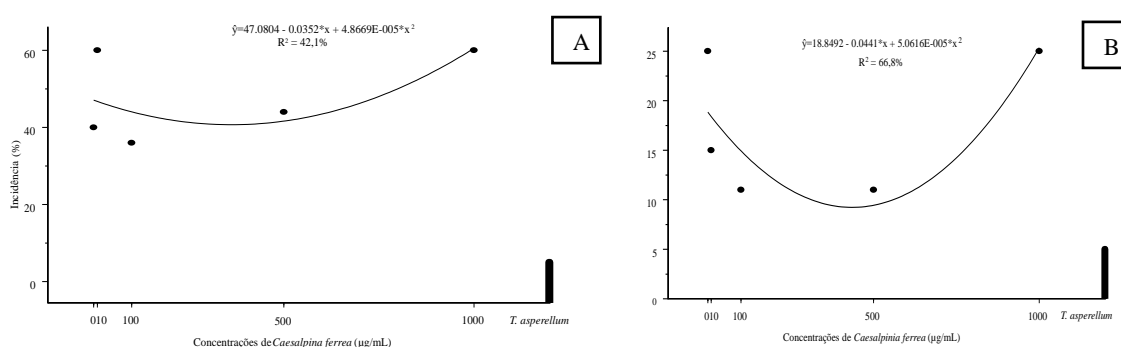
4.3 Análise Estatística

O delineamento foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos: T-1 Extrato de pau-ferro 10 µg/mL, T-2 Extrato de pau-ferro 100 µg/mL, T-3 Extrato de pau-ferro 500 µg/mL e T-4 Extrato de pau-ferro 1000 µg/mL, T-5 Quitosana[®] 0,5 µg/mL, T-6 Quitosana[®] 1,0 µg/mL, T-7 Quitosana[®] 1,5 µg/mL, T-8 Quitosana[®] 2,0 µg/mL, T-9 *T. asperellum* 10¹⁰ conídios/mL, T-10 ADE, com cinco repetições de cinco frutos, totalizando uma área experimental de 250 frutos. Foi feita a regressão para as concentrações do extrato de *C. ferrea* e Quitosana[®] quando avaliaram-se a incidência e severidade e as análises físico-químicas. As médias foram comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$) avaliando-se a

incidência, severidade e as análises físico-químicas para o tratamento com *T. asperellum* 10^{10} conídios/mL, no programa SAS[®] System 9.2.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando utilizou o extrato de *C. ferrea* (Fabaceae) em frutos de tangerina ‘Dancy’, observou diferença estatística, verificando que quando aumentou as concentrações, aumentou a incidência e a severidade da MMA, porém, verificou que na concentração de 100 µg/mL do extrato apresentou menor incidência (35%), consequentemente a menor redução (13%) de *A. alternata* em relação as demais concentrações. Já nas concentrações de 100 e 500 µg/mL, apresentou as menores médias na escala de notas (11 e 11%), quando avaliou a severidade da mancha marrom de alternaria (MMA), em relação as concentrações 0; 10 e 1000 µg/mL do extrato (Figuras 2A e B).



Figuras 2A e B. Incidência e escala diagramática da severidade em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL), em diferentes concentrações do extrato de *Caesalpinia ferrea* e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Na suspensão do antagonista *T. asperellum*, observou a menor incidência (4%) e redução (90%) de *A. alternata* e a menor escala de notas para a severidade da MMA (5%) em frutos de tangerina ‘Dancy’ em relação a todas as concentrações de *C. ferrea* e a testemunha (ADE), que apresentou incidência de (40%), redução de *A. alternata* (0%), e severidade da mancha marrom de alternaria (MMA) (25%) como mostra as Figuras 2A e B.

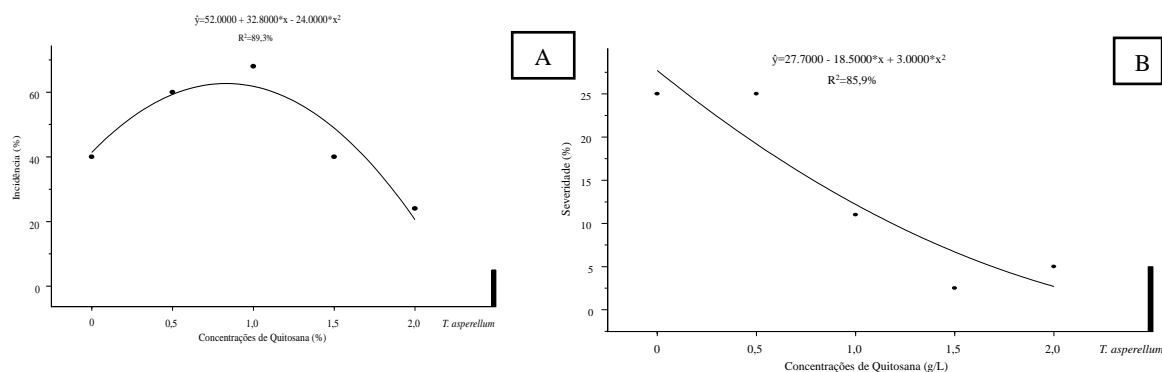
Dados semelhantes ao presente trabalho foram encontrados quando utilizou o extrato melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) nas concentrações de 1; 5; 10; 20 µg/mL, verificou redução na incidência de *A. alternata* em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka) de (9,37; 21,80; 30,80 e 38,39%) e na severidade da mancha marrom de alternaria (MMA) em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka) de (13,39; 23,21; 28,57 e 45,8%), respectivamente (MELO FILHO, 2014). Já nos estudos realizados por Lima et al. (2010), utilizando extratos etanólicos de plantas nativas da caatinga no controle da antracnose em frutos de videira (*Vitis vinifera* L.), verificaram redução (47,56%) na incidência de *C. gloeosporioides* para os frutos tratados com o extrato de jurema preta (*Mimosa hostilis* Benth.) e (88,67%) para o de alecrim do campo (*Lippia*

microphylla Cham). Estudos testando extrato de angico (*Anadanthera colubrina* L.) em frutos de tangerina Tangor (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*) e Murcott (*Citrus sinensis* x *Citrus reclusiana*) mostraram que ocorreu redução na incidência da doença a níveis estatisticamente iguais aos observados para os fungicidas comerciais (CARVALHO et al., 2011).

Utilizando o *Trichoderma asperellum* no presente trabalho, verificou dados semelhantes para a redução na incidência nos trabalhos de Moreira et al., (2002) quando utilizaram *Trichoderma* spp. na suspensão de 10^7 conídios/mL em frutos de pêssgo (*Prunus persicae* L.) observou redução (80%) na incidência da podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (MOREIRA et al., 2002). E na pesquisa realizada por Hong et al. (1998), usando frutos de pêssgo (*P. persica* L.) e ameixa (*Prunus domestica* L.) imersos em suspensão de 10^8 conídios/mL de *Trichoderma viridae* e *Trichoderma atroviridae*, verificaram que os antagonistas foram responsáveis pela redução na incidência de *M. fructicola* (63% e 98%) e (67% e 100%) respectivamente.

Para a avaliação da severidade, também ocorreu comportamento semelhante, quando utilizou o *T. virens* em frutos de mamoeiro (*C. papaya* L.) imersos na suspensão de 10^8 conídios/mL, observou-se redução de (61,19%) na severidade da doença causada por *P. palmivora* (OLIVEIRA, 2012). Guimarães, (2012) avaliando o isolado de *Trichoderma* spp. em frutos de laranja Hamlin (*Citrus sinensis* Osbeck) imersos na suspensão 10^7 conídios/mL, constatou-se redução na severidade da mancha preta do citros ocasionada por *Guignardia citricarpa*. Estudos realizados por Lorenzetti, (2012) após a pulverização do antagonista *Trichoderma* spp. em frutos de morango (*F. vesca* L.), verificou redução de (80%) na severidade da doença causada por *C. acutatum*.

Quando utilizou a Quitosana® em frutos de tangerina ‘Dancy’, observou diferença estatística, verificando que quando aumentou as concentrações, reduziu a incidência e a severidade da MMA, porém, verificou que na concentração 2,0 g/L da Quitosana®, observou a menor incidência (25%) e a menor redução (38%) de *A. alternata*. Já nas concentrações 1,5 e 2,0 g/L, ocorreu as menores médias na escala de notas (2,5 e 5%) quando avaliou a severidade da mancha marrom de alternaria (MMA), em relação as concentrações 0,5 e 1,0 g/L (Figuras 3A e B).



Figuras 3A e B. Incidência e escala diagramática da severidade em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL), em diferentes concentrações de Quitosana® e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Na suspensão do antagonista *T. asperellum*, observou a menor incidência (4%) e redução (90%) de *A. alternata* e a menor escala de notas para a severidade da MMA (5%) em frutos de tangerina ‘Dancy’ em relação a todas as concentrações de Quitosana® e a testemunha (ADE), com incidência (40%) e redução de *A. alternata* (0%), severidade da mancha marrom de alternaria (MMA) (25%), como mostra as Figuras 3A e B.

Dados semelhantes ao presente trabalho foram encontrados quando utilizou a Quitosana® na concentração de 1,5%, reduziu (75%) a incidência de *Rhizopus stolonifer* em frutos de caqui (*Diospyros kaki* L.) (CIA et al., 2010). Baustista-Baños et al. (2003) aplicou a solução de Quitosana® na concentração de 1,5% em frutos de mamão (*Carica papaya* L.) e observaram redução significativa para a antracnose causada por *C. gloeosporioides*. E El Ghaouth et al. (1992) utilizando o revestimento com Quitosana® nas concentrações 1,0 e 1,5% em frutos de morango (*Fragaria vesca* L.), observaram redução de (60%) na incidência de *B. cinerea*.

Para a avaliação da severidade, também ocorreu comportamento semelhante quando aplicou a Quitosana® na concentração 1% em frutos de maçã (*Malus domestica* Borkh), observou redução (26%) na severidade da podridão-amarga da macieira, causada pelo patógeno *Colletotrichum acutatum* (FELIPINI; DI PIERO, 2009). Mazaro (2007), aplicando o produto comercial Quitosana® na concentração de 2,0% em frutos de morango (*F. vesca* L.) obteve redução (27,5%) na severidade do mofo cinzento ocasionada por *B. cinerea*. Já em estudos realizados por Camili et al. (2007) aplicando as concentrações 1,5 e 2,0% de Quitosana® em frutos de uva (*V. vinifera* L.), verificaram redução na severidade do mofo cinzento causado por *B. cinerea*.

O extrato de *C. ferrea* pode apresentar potencial biológico, pois na sua composição de compostos, estão associadas propriedades biológicas responsável pela defesa contra

insetos-praga e doenças, apresentando uma alta atividade antioxidante, com a captura de radicais livre, fontes de compostos bioativos, enquadrando-se em diversas categorias, como fenóis simples e fenóis totais, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, taninos condensados e hidrolisáveis e ligninas (SHAHIDI; NACZK, 2004).

O produto comercial Quitosana é promissor quando aplicados em revestimento de frutos no controle de podridões pós-colheita, podendo interferir diretamente no crescimento de vários fungos fitopatógenos e bactérias, apresentando efeito fungistático e ou fungicida, e bacteriostático e/ou bactericida. Desta forma pode induzir mudanças morfológicas, alterações estruturais e ocorrer à desorganização molecular em fungos (RABEA et al., 2008). Ativando respostas de defesa no tecido vegetal como a lignificação dos tecidos, induzindo a síntese de calose, eliciando a produção de fitoalexinas (EL HADRAMI et al., 2010), de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podendo ocorrer o acúmulo de quitinase (RABEA et al., 2008) e induzir a síntese de inibidores de proteinase (BASSETTO, 2006).

O gênero *Trichoderma* spp. tem demonstrado eficiência no controle de várias doenças, devido esse antagonista influenciar na produção de antibióticos, através da competição (SCHIPPERS et al., 1987, WELLER, 1988) e pelo micoparasitismo, fenômeno em que determinado microorganismo obtém nutrientes a partir de células vivas e funcionais do hospedeiro com quem vive em íntima associação, mantendo as células daquele para depois se alimentar (parasita necrotrófico) ou absorvendo nutrientes das células vivas (parasita biotróficos), tendo-se então etapas de quimiotropismo, onde ocorre o reconhecimento do patógeno, e desta forma ocorre a produção de enzimas chaves como as quitinases e a β -1,3-glucanases, que são responsáveis pelo processo da lise das paredes celulares durante a ação micoparasítica contra fungos patogênicos (HOWELL, 2003).

Avaliando as concentrações 10; 100; 500 e 1000 μ g/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L de Quitosana[®] em frutos de tangerina ‘Dancy’, verificou que não houve diferença estatística para os tratamentos (*C. ferrea* e Quitosana[®]) e as concentrações. Apresentando médias (24,0 e 24,65%) de perda de massa, respectivamente. Já para o tratamento com o *T. asperellum*, observou diferença estatística entre esses dois tratamentos, apresentando menor média de perda de massa (27,0%) em relação a testemunha (ADE) (25,5%).

Vale salientar que, a perda de massa em frutos de tangerina ‘Dancy’ obtidas no presente trabalho, pode estar relacionada com à perda de água, pois de acordo com Bonani et al. (2013) essa perda resulta no enrugamento e murchamento, comprometendo as qualidades

texturais (amaciamento, perda da frescor e suculência), as nutricionais e consequentemente reduzindo a qualidade pós-colheita (ASSMAN et al., 2006).

Quando aplicou as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, observou que a medida que aumentou as concentrações, elevou a firmeza dos frutos em tangerina ‘Dancy’ (Figura 4A). Já para as concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L da Quitosana®, não houve diferença estatística entre as concentrações, apresentando média para a firmeza dos frutos (1,4).

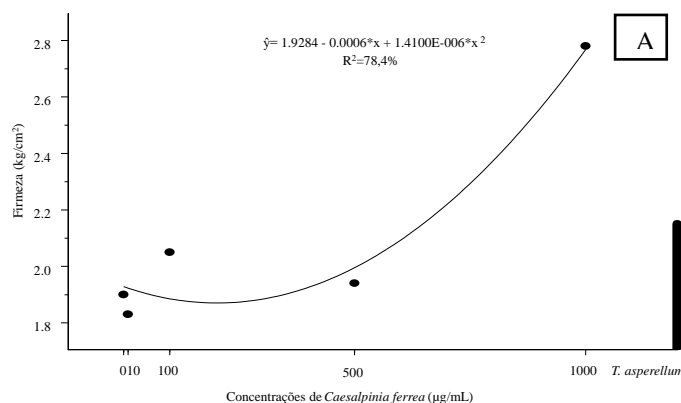


Figura 4A. Firmeza dos frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de *Caesalpinia ferrea*. Areia-PB, 2014.

Quando utilizou o *T. asperellum* e comparou com a testemunha (ADE), verificou que não houve diferença estatística entre os tratamentos avaliados, para firmeza de frutos, apresentando as médias (1,9 e 1,23 kg/cm²), respectivamente.

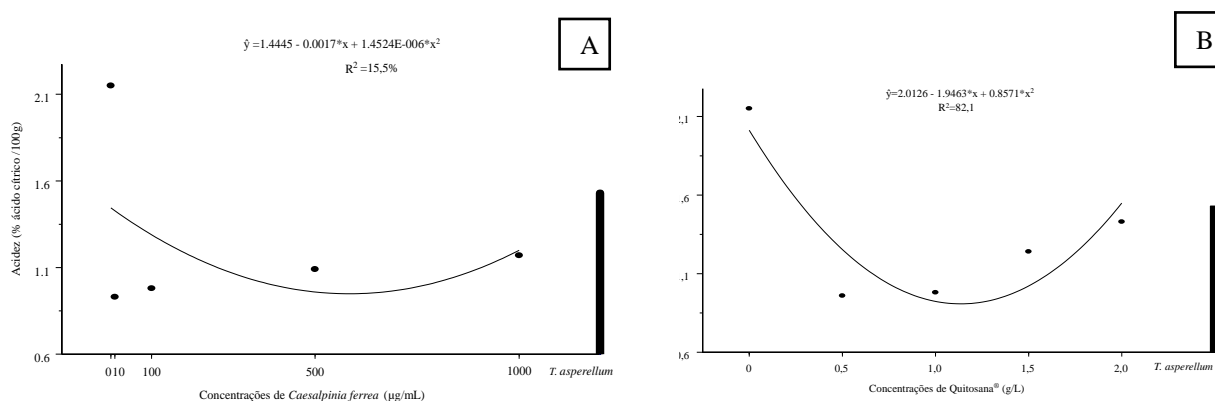
A baixa taxa da firmeza nos frutos de tangerina ‘Dancy’ apresentada nos tratamentos com extrato de *C. ferrea*, o produto comercial Quitosana® e o *T. asperellum*, pode estar associada com perda da integridade das paredes celulares, pois, de acordo com Tucker, (1993) a firmeza promove a preservação da celulose, da hemicelulose e das pectinas, que pode ter influenciado nas características fisiológica dos frutos.

Quando avaliou as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 g/L de Quitosana®, verificou-se que não ocorreu diferenças estatísticas entre os tratamentos e as concentrações, apresentando médias para os teores de sólidos solúveis totais (SST) (10,25 e 10,41 °Brix) respectivamente.

Já para o tratamento *T. asperellum* e a testemunha (ADE), verificou-se que houve diferença estatística, apresentando médias para SST (11,55 e 10,6 °Brix), respectivamente, em frutos de tangerina ‘Dancy’.

Verificou-se, que neste trabalho, as médias obtidas para o teor de SST (glicose, frutose e sacarose), permaneceu dentro da faixa compreendida entre 7,5 a 16,4 °Brix, pois, de acordo com Vieira, (2006) esta faixa de SST representa o padrão aceitável pelo mercado consumidor de tangerineiras.

Quando utilizou-se as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 g/L de Quitosana®, apresentou diferenças estatísticas, verificando que, à medida que aumentou as concentrações, elevou a média da acidez em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figuras 5A e B).



Figuras 5A e B. Avaliação da acidez em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de *Caesalpinia ferrea*, Quitosana® e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Quando utilizou o *T. asperellum*, constatou diferença estatística, verificando que no tratamento com o *T. asperellum* ocorreu uma maior taxa de ácido cítrico/100g em frutos de tangerina ‘Dancy’ em relação a testemunha (ADE) (Figuras 5A e B).

As variações nos teores de acidez entre as variedades de tangerinas são bastante significativas, de acordo com o presente trabalho, pois de acordo com Barbasso (2004), verificou que os valores médios de porcentagem de acidez foram bastante distintos, variando de (0,40 a 1,5%).

De acordo com o presente trabalho, verificou que nos tratamentos com *C. ferrea* e Quitosana®, obtiveram as menores taxas de incidência e severidade da MMA, e também ocorreu aumento nas taxas de ácido cítrico/100g em frutos de tangerina ‘Dancy’, pois segundo Chitarra; Chitarra (1990), o aumento na taxa de acidez, influencia na respiração, podendo estabilizar o metabolismo dos frutos.

Quando aplicou-se as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, observou que não houve diferença estatística entre as concentrações, apresentando média (10,04) para a relação SST/AT em frutos de tangerina ‘Dancy’.

Para a avaliação das concentrações 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 g/L de Quitosana[®], verificou-se diferenças estatísticas, pois, à medida que aumentou as concentrações, reduziu a média para a relação de SST/AT em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figura 6A).

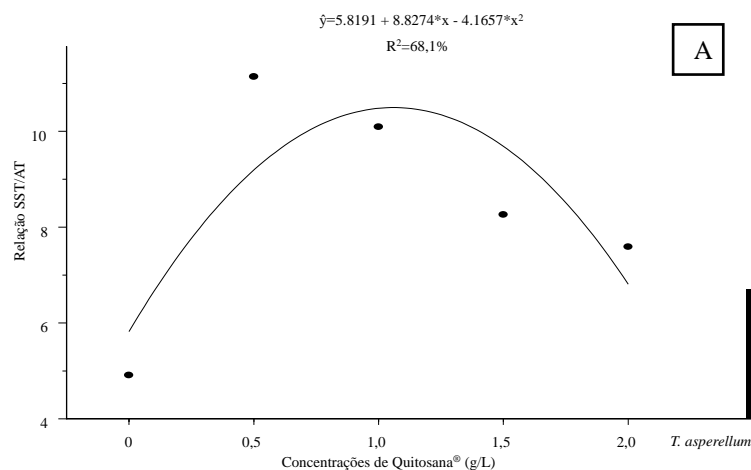
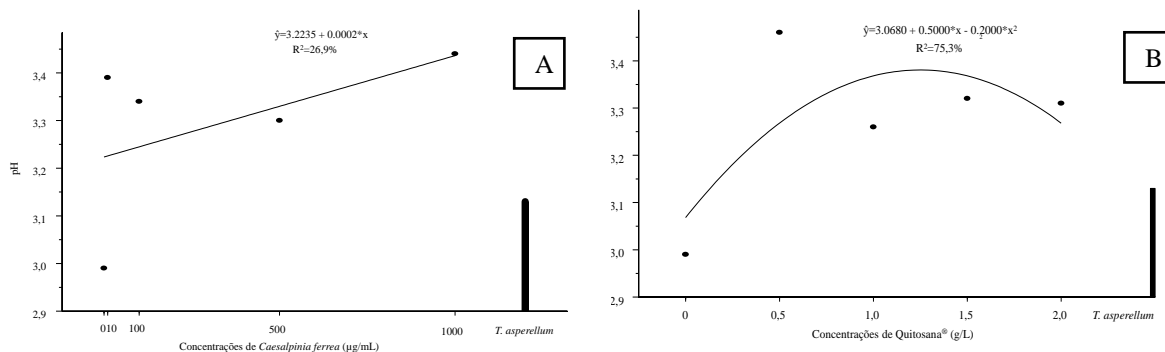


Figura 6A. Relação sólidos solúveis totais/acidez titulável e em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações de Quitosana[®] e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Quando utilizou o *T. asperellum*, verificou que não houve diferença estatística quando comparou com a maior concentração de Quitosana[®], porém, quando comparou com a testemunha (ADE), observou diferença estatística, verificando que o tratamento com o antagonista, influenciou no aumento na relação SST/AT em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figura 6A).

Os resultados no presente trabalho, mostra que as taxas na relação SST/AT foram relativamente baixas e pode ser explicada pela diminuição da taxa de SST e consequentemente o efeito foi inverso, desta forma, aumentou a taxa de acidez em frutos de tangerina ‘Dancy’, o que pode ter reduzido as atividades metabólicas e consequentemente influenciado na diminuição da taxa respiratória em frutos, pois de acordo com Chitarra; Chitarra (1990), a relação SST/AT, indica que quanto menor a taxa de sólidos solúveis totais, maior será a acidez, e desta forma, poderá influenciar na diminuição da atividade respiratória, e consequentemente reduzir a aceleração do metabolismo, retardando o processo de maturação dos frutos.

Utilizando as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L de Quitosana[®], observou diferenças estatísticas, verificando que, à medida que aumentou as concentrações, elevou a média do pH em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figura 7A e B).



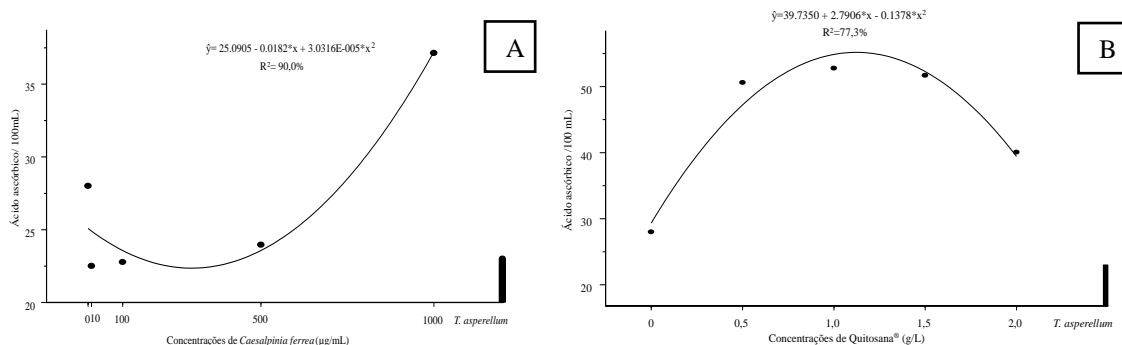
Figuras 7A e B. Potencial hidrogeniônico em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de *Caesalpinia ferrea*, Quitosana® e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Quando comparou o *T. asperellum* com as concentrações do *C. ferrea*, Quitosana® e a testemunha (ADE), constatou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos, para a avaliação do pH em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figura 7A e B).

A pequena variação do pH que ocorreu no presente trabalho, pode ter equilibrado o sistema metabólico dos frutos, pois, de acordo com Chitarra; Chitarra (2005) os ácidos orgânicos (livres ou esterificados) presentes na célula, pode está associada a sais de potássio que constituem os sistemas tampões, apresentando um importante papel na regulação enzimática dos frutos.

Avaliando as concentrações 10; 100; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, apresentou diferenças estatísticas, verificando que, à medida que aumentou as concentrações, elevou as médias para a taxa de ácido ascórbico, em frutos de tangerina ‘Dancy’ (Figura 8A).

Já na avaliação das concentrações 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 g/L de Quitosana®, constatou-se diferenças estatísticas. Mostrando comportamento inverso ao do extrato de *C. ferrea*, verificando que à medida que aumentou as concentrações, reduziu as médias para a taxa de ácido ascórbico (Figura 8B).



Figuras 8A e B. Ácido ascórbico em frutos de tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* Hort. ex Tanaka), inoculados com *Alternaria alternata* (10^5 conídios/mL) em diferentes concentrações do extrato de *Caesalpinia ferrea*, Quitosana® e *Trichoderma asperellum*. Areia-PB, 2014.

Quando comparou o *T. asperellum* com as concentrações 100 µg/mL de *C. ferrea* e 1,5 g/L Quitosana®, observou as menores médias taxa de ácido ascórbico (Figura 8A e B).

De acordo com os resultados no presente trabalho, observou que a concentração 100 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, 1,5 g/L de Quitosana® e o *T. asperellum*, apresentaram as menores percentagem de incidência e severidade e consequentemente as menores taxas de ácido ascórbico em frutos de tangerina ‘Dancy’, pois de acordo com Pellegrini et al. (2007) a redução nos teores de ácido ascórbico em frutos e nos vegetais, pode ter ocorrido devido a produção de compostos com potencial antioxidante, como as vitaminas C, carotenóides, clorofilas, e uma variedade de antioxidantes fitoquímicos como compostos fenólicos simples, glicosídeos e flavonóides que pode ter sido ocasionado pelo processo de indução de defesa em frutos no controle de patógenos.

6. CONCLUSÃO

- As concentrações 100 µg/mL do extrato de *C. ferrea*, 2,0 g/L de Quitosana® e o *T. asperellum* foram responsáveis por reduzir a incidência de *A. alternata*, a severidade da MMA e conservar a qualidade pós-colheita em frutos de tangerina ‘Dancy’;
- As concentrações 10; 500 e 1000 µg/mL do extrato de *C. ferrea* e 0,5; 1,0 e 1,5 g/L de Quitosana®, não foram eficientes no controle da MMA em frutos de tangerina ‘Dancy’, porém, em algumas concentrações, conservou as qualidades pós-colheita em frutos de tangerina ‘Dancy’.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Amsterdam: Elsevier Academic, 5th. ed. 922 p.2005.

AGRONEGÓCIOS- Em Rio Real, Bahia, produtores comemoram a safra da laranja. Disponível em:< <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2014/05/em-rio-real-bahia-produtores-comemoram-safra-da-laranja.html>>. Acesso em: 15 de mai. 2014.

ALTOMARE, C.; NORVELL, W. A.; BJÖRKMAN, T.; HARMAN, G. E. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.7, p.2926-2933, 1999.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Washington: **AOAC**, 17th ed. 1115p. 2005.

APAIL, W.; SARSDUD, V.; BOONPRASOM, P. et al. Effects of chitosan and citric acid on pericarp browning and polyphenol oxidase activity of long an fruit. **Songklanakarin Journal of Scienceand Technology**, v.31, n.6, p.621-628, 2009.

AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, Campina Grande, v.2, n.3, p.27-34, 2007.

BADAWY M. E. I; RABEA, E. I, **Postharvest Biol. Technol.** Postharvest bio, 2008.

BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. St Paul, Minnesota: **APS Press**, 218p. 1998.

BASSETTO, E. **Quantificação de danos ao longo da cadeia produtiva de pêssegos e avaliação de métodos alternativos de controle de doenças pós-colheita**. Piracicaba. Tese (Doutorado em fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 126f. 2006.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de Resistência: noções básicas e perspectivas. In: Cavalcanti, L.S.; Di Piero, R. M.; Cia, P.; Pascholati, S.F.;

Resende, M.L.V.; Romeiro, R. S. (Eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, 263p. 2005.

BOONLERTNIRUN, S.; BOONRAUNG, C.; SUVANASARA, R. **Journal of Metals, Materials and Minerals**, v.18 (2), 47p. 2008.

CAMILI, E. C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.3, p.215-221, 2007.

CAMILI, E. C. et al. Avaliação de quitosana, aplicada em pós-colheita, na proteção de uva 'Itália' contra *Botrytis cinerea*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu-SP. v.33, p.3, p.215-221, 2007.

CANIHOS, Y.; PEEVER, T. L.; TIMMER, L. W. Temperature, leaf wetness, and isolate effects on infection of Minneola Tangelo leaves by *Alternaria* sp. **Plant Disease**, v.83, p.429- 433, 1999.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL-FAEPE, 785p. 2005.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças; fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL-FAEPE, 320p. 1990.

CITRICULTURA. Citricultura paulista. Disponível em: <<http://al-sp.jusbrasil.com.br/noticias/100027157/citricultura-paulista-autoridades-e-liderancas-discutem-medidas-que-contemplem-setor>>. Acesso em: 12 jan. 2013.

CITRUS BR- Retrato da citricultura. Disponível em: <http://www.citrusbr.com.br/download/biblioteca/o_retrato_da_citricultura_brasileira_baixa.pdf>. Acesso em: 23 de set. de 2013.

COELHO, Y. S. Tangerina para a exportação: aspectos técnicos da produção. Brasília: EMBRAPA-SPI, (**Série Publicações Técnicas Frupep**, 3), 42p. 1996.

COLTURATO, A. B. **Efeito do meio de cultura, temperatura, fotoperíodo e fungicidas no crescimento micelial e no controle de *Alternaria alternata* f. sp. citri, causador da mancha marrom do tangor murcote.** Universidade Estadual Paulista- Faculdade de Ciências agrônômicas. Dissertação (Mestrado). Botucatu-SP, 53f. 2006.

COTTAS, M. P. Mancha marrom de alternaria, uma opção de controle. Disponível em:<http://www.agrofit.com.br/portal/index.php?view=article&catid=54:citros&id=10:mancha-marrom-de-alternaria-uma-opcao-decontrole&option=com_content&Item=18>. Acesso em: 18 fev. 2011.

DASH, M. et al. Progress in polym. Sci. v.36, n.8, p.981-1014. 2011.

DENARDI, F.; BERTON, O.; SPENGLER, M. M. Resistência genética à podridão amarga em maçãs, determinada pela taxa de desenvolvimento da doença em frutos com e sem ferimentos. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v.25, n.3, p.494-497, dezembro 2003.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEULEN, A.; DEBEVERE, J. Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. **Food Microbiology**, v.21, p.703-714, 2004

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; WILSON, C.; BENHAMOU, N. Ultra structural and cytochemical aspects of the effect of chitosan on decay of bell pepper fruit. **Physiological and molecular Plant Pathology**, London, v.44, p.417-432, 1994.

FAULIN, M. S. A. R. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli: parâmetros bioquímicos e da produção.** Tese de Doutorado. Piracicaba SP. Universidade de São Paulo, 50f. 2010.

FEICHTENBERGER, E.; SPÓSITO, M. B.; PIO, R. M; CASTRO, J.L. Seleção de tangerinas e híbridos de citros para a tolerância à Mancha Marrom de *Alternaria* (*Alternaria alternata* Keissler). **Citricultura atual**. Cordeirópolis, n.45, v.8, p.08-10, 2005.

FILHO, M. R. C.; MELLO, S. C. M.; SANTOS, R. P.; MENÊZES, J. E. Avaliação de isolados de *Trichoderma* na promoção de crescimento, produção de ácido indolacético *in vitro* e colonização endofítica de mudas de eucalipto. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 226p. 2008.

FORNER, C. **Controle em pós-colheita de bolor verde em laranja pêra com microrganismos e tratamento térmico**. Universidade Estadual Paulista. Dissertação (agronomia). Botucatu-SP, 58f. 2012.

FREITAS, M. B. Citricultores da região de Matinhas recebem recursos para produção de laranja e tangerina. Disponível em:<http://www.paraibatotal.com.br/noticias/2013/02/14/93270-citricultores-da-regiao-de-matinhas-recebem-recursos-para-producao-de-laranja-e-tangerina>>. Acesso em: 13 mai. 2014.

GARDNER, J. M.; KONO, Y.; CHANDLER, J. L. Biossay and host-selectivity of *Alternaria citri* toxins affecting rough lemon and mandarins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.29, p.293-304, 1986.

GARDNER, J. M.; KONO, Y.; CHANDLER, J. L. Biossay and host-selectivity of *Alternaria citri* toxins affecting rough lemon and mandarins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.29, p.293-304, 1986.

GOES, A.; MONTES DE OCA, A. G.; REIS, R. F. Ocorrência de la mancha de alternaria em mandarina “Dancy” en el Estado de Rio de Janeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.26, 386p. 2001.

GOMES, W. A. **Estado nutricional, produtividade e qualidade de tangerina cv. ‘Dancy’ sob adubação verde e poda no Brejo paraibano**. Universidade Federal da Paraíba. Dissertação (mestrado em agronomia). Areia-PB, 55f. 2010.

GOVERNO DA PARAÍBA- Investe na citricultura na Paraíba. Disponível em: <<http://www.paraiba.pb.gov.br/31933/estado-apoia-festa-da-laranja-e-estimula-producao-em-matinhas.html>>. Acesso em: 20 Jul. de 2013.

HAN, C.; LEDERER, C.; MCDANIEL, M.; ZHAO, Y. Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria vesca* L.) coated with chitosan-based edible coatings. **Journal of Food Science**, v.70, p.172-178, 2005.

HERNANDÉZ-LAUZARDO A. N.; BAUTISTA-BAÑOS M. G.; VELÁZQUEZ-DEL V.; MÉNDEZ-MONTEALVO, M. G.; SÁNCHEZ-RIVERA, M.; BELLO-PÉREZ, L. A.; **Carbohydr Polym**, v.73, 541p. 2008.

HOWELL, C. R. Field control of cotton seedling diseases with *Trichoderma virens* in combination with fungicide seed treatments. **I Journal of Cotton science**, v.1, p.15-20, 1998.

HOYOS-CARVAJAL, L.; ORDUZ, S.; BISSETT, J. - Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. **Biological Control**, v.51, p.409–416, 2009.

IA, P. et al. Quitosana no controle pós-colheita da podridão mole em caqui ‘rama forte. *Bragantia*, Campinas-SP, v.69, n. 3, p.745-752, 2010.

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística: Comentários. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_\[anual\]/2011/pam_20_11_comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_[anual]/2011/pam_20_11_comentarios.pdf)>. Acesso em: 13 jan. 2013.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa – BDMEP. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/>. Acesso em: Dez. 2010.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo: IAL, 4. ed. 1020p. 1. ed. digital. 2008.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. **Manual técnico de análise química de alimentos**. Campinas-SP, 1990.

KUĆ, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v.33, p.275-297, 1995.

KUSABA, M.; TSUGE, T. Nuclear ribosomal DNA variation and pathogenic specialization in *Alternaria* fungi known to produce host specific toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, v.60, p.3055-3062, 1994.

LADANIYA, M. S. Citrus fruit: biology, technology and evaluation. San Diego: **Elsevier Academic**, 558p. 2008.

LARANJEIRA, F. F.; SANTOS FILHO, H. P.; OLIVEIRA, A. A. R. Mancha marrom de alternaria em tangerinas. Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMF, (**Citros em Foco**, 33). 2p. 2009.

LIMA, J. de S.; PEREZ, J. O.; BARROS, P. N.; AZEVEDO, L. C.; MENDES, R. B.; PESSOA, R. A. Atividade fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Vitis vinifera*. **L. V CONNEPI**, Maceió-AL, 2010.

LOPES, E. B.; ALBUQUERQUE, I. C.; ARAÚJO, E. Mancha-marrom-de-alternaria: uma grave doença nos pomares de tangerina da Paraíba. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.3, p.23-27, 2009.

LOUZADA, G. A. S.; CARVALHO, D. D. C.; MELLO, S. C. M.; LOBO JÚNIOR, M.; MARTINS, I.; BRAÚNA L. M. - Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes ecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. **Biota neotropical**. v.9, n.3, p.145–149, 2009.

LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D.; DE JESUS, C. O.; PASCHOLATI, S. F.; DE GOES, A. Postharvest harpin or *Bacillus thuringiensis* treatments suppress citrus black spot in 'Valencia' oranges. **Crop Protection**, Amsterdam, v.29, n.7, p.66-772, 2010.

MARO, L. A. C. **Controle do bolor verde em citros com produtos alternativos aos agroquímicos**. Universidade Federal de Viçosa. Dissertação (fitotecnia). Viçosa-MG, 68f. 2010.

MAZARO, S. M. **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. Curitiba-PR. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná. 105f. 2007.

MAZARO, S. M.; DESCHAMPS, C.; MIO, L. L. M. de; BIASI, L. A.; GOUVEA, A. de; SAUTTER, C. K. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-S-metil-1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p.185-190, 2008.

MAZARO, S. M.; **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. Tese de Doutorado. Paraná, Brasil. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 40f. 2007.

MELO, I. S.; Potencialidades de utilização de *Trichoderma* spp. no controle biológico de doenças de plantas. In: BETTIOL, W. (Org.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPDA, p.7-23, 1991.

PAPAVIZAS, G. C. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.23, p. 23-54. 1985.

PATRO, P. pau-ferro. Disponível em: <http://www.jardineiro.net/plantas/pau-ferro-caesalpinia-ferrea.html>. Acesso em: 29 de Abr. de 2014

PEEVER, T. L.; CARPENTER, L. B.; TIMMER, L. W. Molecular systematics of citrus - associated *Alternaria* species. **Mycologia**, Philadelphia, v.96, n.1, p.119-134, 2004.

PELISSARI, L. Q. Tangerina ponkan é rica em antioxidantes e diminui o risco de Alzheimer. Centrais de abastecimento do Espírito Santo – CEASA/ES. Disponível em: www.ceasa.es.gov.br. Acesso em: 02 set. 2013.

PEN, L. T.; JIANG, Y. M. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. **Food Science and Technology**, v.36, p.359- 364, 2003.

PERES, N. A. R.; AGOSTINI, J. P.; TIMMER, L. W. Outbreaks of *Aternaria* brown spot of citrus in Brazil and Argentina. **Plant Disease** v.87, 750p. 2003.

PINTO, K. M. S. **Substâncias bioativas de extratos vegetais no manejo da mancha marrom de alternaria** (*Alternaria alternata* f. sp. *citri*). Universidade Federal da Paraíba. Areia: CCA/UFPB. (Tese de Doutorado em Agronomia). 119f. 2013.

PRATES, H. S. Mancha de Alternaria nas tangerinas. **Revista Coopercitrus**, Campinas, n.205, p.12-14, 2004.

RABDEL-MAWGOUD, A. M.; TANTAWY, A. S.; EL-NEMR, M. A.; Sassine, Y.N. **EJSR**, v.39, n.1, 170p. 2010.

RABELLO, L. K. C. et al. Efeito dos óleos de nim (*Azadiractha indica* A. Juss) e mamona (*Ricinus comunnis* L.) no controle “*in vitro*” de *Cercorpora petroselini* (Saccardo). In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTIFICA E PÓS-GRADUAÇÃO. Vale do Paraíba. **Anais**. Universidade do Vale do Paraíba, 2009.

RAMOS BERGER, L. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P., Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. **Revista Iberoamericana de Polímeros**, Bilbao, v.12, n.4, p.195-215, 2011.

REIS, J. M. R.; LIMA, L. C.; VILAS-BOAS, E. V. B.; CHITARRA, A. B. Relação entre o grau de coloração da casca e algumas características de qualidade de tangerina Ponkan. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.24, p.182-186, 2000.

REIS, R. F.; GOES, A.; MONDAL, S. M.; TIMMER, L. W. Effectiveness of fungicides and susceptibility of fruit and leaves of tangerines, tangor and tangelos to infection by *Alternaria alternata*, the cause of brown spot. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, p.11-12, 2006.

RENAUD, M. S. A.; AMORIN, L.; LOURENÇO, S. A.; SPÓSITO, M. B. Escala Diagramática para avaliação da Mancha Marrom de *Alternaria* de citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, 2004.

RESENDE, M. L.; OLIVEIRA, J. A.; GUIMARÃES, R. M.; PINHO, R. G. V.; VIEIRA, A. R. Inoculações de sementes de milho utilizando o *Trichoderma harzianum* como promotor de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.4, p.793-798, 2004.

ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: Pascholati, S.F.; Leite, B.; Stangarlin, J.R.; Cia, P. (Eds.). Interação Planta-Patógeno: **Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba, SP, p.411-429, 2008.

ROSSI, JR. C. Aspecto da cultura de tangerinas no Sul de Minas Gerais. Laranja, Cordeirópolis, v.20, n.2, p.409-417, 1999.

SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied microbiology and biotechnology**, v.87, P.87-799, 2010.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects: CRC Press, **Boca Raton**, FL. 2004.

SHARMA, R. R.; SINGH, D.; SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. **Biological Control**, Dordrecht, v.1, n.3, p.205-221, 2009.

SILVA, R. A. et al. Situação econômica e produtiva da cultura dos citros no Estado da Paraíba. **Revista Verde**. Mossoró – RN, v.6, n.3, p. 39 - 48, 2011.

SINGH, T.; VESENTINI, D.; SINGH, A. P.; DANIEL, G.; Int. **Biodeterior Biodegrad**, v.62, p.116, 2008.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.9, 2007.

SOLEL, Z. Alternaria brown spot on Minneola tangelos in Israel. **Plant Pathology**, Oxford, v.40, n.1, p.145-147, 1991.

SOUSA, L. S. S.; SOARES, A. C. F. Efeito “*In Vitro*” Do Extrato Aquoso De Nim (*Azadirachta indica*) E Alho (*Allium sativum* L.) Em *Aspergillus niger*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, 2009.

SOUZA, J. L.; RESENDE, P. Manual de horticultura orgânica. Viçosa: Aprenda fácil, 2. ed. 2006.

SPÓSITO, M. B.; FEICHTENBERGER, E.; PIO, R. M.; CASTRO, J. L.; RENAUD, M. S. A . Ocorrência de mancha marrom de Alternária em diferentes genótipos de citros nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.231, 2003.

STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, T. L. M.; FRANCO, L. O. Produção, propriedades e aplicações da quitosana na agricultura e no ambiente. En: Figueiredo MVB, Burity HA, Stamford, NP, Santos CERS (editores). Microorganismos e Agrobiodiversidade: o novo desafio para a agricultura. Guaíba: **Agrolivros**, 1 ed. 568p. 2008.

STICHER, L., MAUCH-MANI, B., METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**. v.35, p.235-270, 1997.

STUART, R. M.; BASTIANEL, M.; AZEVEDO, F. A.; MACHADO, M. A. Alternaria Brown Spot. **Laranja**, v.30, n.1-2, p.29-44, 2009.

SWINGLE, W. T. The botany of Citrus and its relatives. Revisão de Philip C. Reece. In: REUTHER, W.; WEBBER, H. J.; BATCHELOR, L. D. (eds.). The citrus industry. Berkeley, California: University of California, v.1, cap.3, p.190-430, 1967.

THARANATHAN, R. N.; KITTUR, F. S.; Crit. **Rev. Food Sci. Nutr.** v.43, 61 p. 2003.

TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. Compendium of citrus diseases Minnesota: **APS Press**, 2.ed. 128p. 2000.

TIMMER, L. W.; PEEVER, T. L.; SOLEIL, Z.; AZUYA, K.; KIMITSU, A. Alternaria diseases of citrus-novel pathosystems. **Phytopathologia Mediterranea**, v.42, p.99-112, 2003.

TURRA, C.; GHISI, F. Laranja orgânica no Brasil: produção, mercado e tendências. Disponível em: <http://www.sober.org.br/palestra/12/01P052.pdf>. Acesso em: junho de 2014.

VILLALOBOS, S. S.; ORTIZ, D. A. G.; LIM, M. A. G.; FRIER, J. P. D.; FOLTER, S.; GARCÍA, P. S.; CABRIALES, J. J. P. Potential use of *Trichoderma asperellum* (Samuels, Liechfeldt et Nirenberg) as a biological control agent against anthracnose in mango (*Mangifera indica* L.). **Biological Control**, v.64, p.37-44. 2013.

WALTON, J. D. Host-selective toxins: agents of compatibility. **Plant Cell**, v.8, p.1723-1733, 1996.

WHITESIDE, J. O.; GARNSEY, S. M.; TIMMER, L. W. **Compendium of citrus diseases**. APS Press:Sta. Paul, 80p.1993.

WISNIEWSKI M, WILSON C. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. **Rec Adv Hort Sci.** v.27, p.94-98, 1992.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, v.96, p.181-185, 2006.

ZHANG, D.; QUANTICK, P. C. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.12, p.195-202, 1997.